

Etioopatogenia da Diabetes Mellitus tipo 1

Artigo de Revisão Bibliográfica

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Carolina Ruivo Miranda Gaspar

Orientadora: Maria La Salete Soares Martins Silva

Etiopatogenia da Diabetes Mellitus tipo 1

Artigo de Revisão Bibliográfica

Estudante: Carolina Ruivo Miranda Gaspar

Aluna do 6º ano profissionalizante do Mestrado Integrado em Medicina

Endereço: Rua Professor Joaquim Bastos, nº30, 2ªA, 4200-604, Porto

E-mail: carolinagaspar.bb@gmail.com

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto (ICBAS-UP)

Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira, nº228, 4050-313 Porto

Orientadora: Maria La Salete Soares Martins Silva

Afiliação: Serviço de Nefrologia do Centro Hospitalar do Porto / Assistente Medicina I – ICBAS-UP

Resumo

A Diabetes Mellitus tipo 1 é uma doença auto-imune na qual as células beta do pâncreas, produtoras de insulina, são destruídas. À medida que o nível de insulina vai diminuindo, a capacidade das células de captar e processar a glucose é cada vez mais prejudicada, levando à hiperglicemia. Esta situação, prolongada no tempo, leva a graves consequências para a saúde, nomeadamente ao atingimento macrovascular e microvascular. Não existe cura disponível, e o perfeito controlo manifesta-se, por vezes, difícil de obter.

Afeta cerca de 20 milhões de pessoas em todo o mundo, nomeadamente 0,15% da população portuguesa menor que 20 anos, e a sua incidência tem vindo a aumentar. Pode surgir em qualquer idade, sendo o pico de incidência entre os 11 e os 13 anos, e continua para toda a vida.

Portanto, sendo esta uma doença grave e com uma prevalência significativa, destaca-se a importância do seu estudo aprofundado, nomeadamente da compreensão total da sua etiopatogenia, para que novas formas de prevenção ou controlo sejam encontradas.

Este trabalho aborda os diversos mecanismos até hoje considerados como parte do complexo processo de aparecimento da doença. Desde o mecanismo imunológico que leva à destruição das células beta, ao forte componente genético, passando pela influência do ambiente, várias são as hipóteses que vão surgindo e sendo comprovadas ou eliminadas.

Palavras-Chave

Mecanismos imunológicos; Células beta; Genes MHC; Genes não-MHC; Autoantígeno; Autoanticorpo; Factores ambientais.

Abstract

Type 1 Diabetes Mellitus is an autoimmune disease in which the insulin producer pancreatic beta cells are destroyed. As insulin level decreases, the cells' ability to pick up and process glucose is increasingly impaired, leading to hyperglycemia. This status, prolonged in time, leads to severe consequences to the health, namely microvascular and macrovascular complications. There isn't a cure for the disease, and the perfect control is sometimes difficult to achieve.

It affects about 20 million people worldwide, including 0.15% of the portuguese population less than 20 years, and the incidence is increasing. Can occur at any age, with a peak incidence between 11 and 13 years, and it continues for life.

So, since this is a serious disease, with a significant prevalence, we highlight the importance of further and detailed study, including the full understanding of its etiopathogenesis, so that new forms of prevention and control can be found.

This paper discusses the various mechanisms so far considered as part of the complex process of diseases' onset. Since the immune mechanism leading to beta cell destruction, to the strong genetic component, through the influence of the environment, there are several hypotheses that are continuously emerging and being proven or eliminated.

Key-words

Imunologic mechanism; Beta Cells, MHC genes; non-MHC genes; autoantigen; autoantibody; environmental factors.

Índice

Resumo	3
Palavras-Chave	3
Abstract	4
Key-words.....	4
Introdução.....	6
Mecanismos Imunológicos da Diabetes Mellitus tipo 1	8
Mecanismos de destruição das células beta	8
Início da resposta imunológica contra as células beta	8
Mecanismos efetores.....	9
Suscetibilidade genética	11
Genes do MHC	11
Genes não-MHC	14
Região do gene da Insulina	14
Gene CTLA-4	15
Gene PTPN22	16
Outros genes	16
Autoantígenos e autoanticorpos	18
Insulina.....	19
Descarboxilase do Ácido Glutâmico (GAD)	20
Proteína associada ao insulinoma 2 (IA-2)	21
Transportador do zinco ZnT8	21
Fatores ambientais	22
O papel dos vírus	22
Fatores perinatais	23
Fatores da infância.....	24
Conclusão.....	26
Referências Bibliográficas	27

Introdução

A Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune causada pela destruição das células beta dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, produtoras de insulina. Assim que a população de células beta se torna reduzida e funcionalmente suprimida, a falta de insulina faz com que os tecidos sejam incapazes de captar a glucose necessária para a manutenção da sua actividade. No passado, a DM1 foi até considerada uma doença fatal, situação que deixou de ser comum após a descoberta e introdução terapêutica da insulina exógena, capaz de regular os níveis de glucose no sangue. No entanto, mesmo após quase um século de investigação, o controlo glicémico nestes doentes continua a ser difícil de atingir, e as várias complicações decorrentes da doença são comuns, (1) nomeadamente o atingimento microvascular (retinopatia, nefropatia e neuropatia) e macrovascular (doença coronária, doença arterial periférica, entre outras).(2)

É uma doença cuja incidência tem vindo a aumentar, hoje afeta cerca de 20 milhões de pessoas em todo o mundo, com um crescimento de 2 a 5% por ano em vários países. Este aumento parece atingir principalmente crianças (3) – embora a doença possa ocorrer em qualquer idade, é mais comum antes dos 20 anos, sendo o pico entre os 11 e os 13 anos.(2) A verdadeira explicação para o aumento é desconhecida, embora os factores ambientais possam desempenhar um papel importante.

A incidência da doença varia conforme a geografia, a idade, o sexo e a história familiar. Foi observado que quando um indivíduo se muda de uma região de baixa incidência para uma de alta incidência o seu risco de desenvolver DM1 aumenta. Por outro lado, foram encontradas grandes variações na incidência entre localidades vizinhas, com um ambiente similar, o que enfatiza a importância dos factores de risco genéticos. Este risco está bem definido nas famílias de origem caucasiana: a ausência de história familiar confere um risco de doença de 0,4%, um descendente de mãe diabética tem um risco de 2 a 4%, um de pai diabético de 5 a 8%, e se os dois pais forem afetados o risco é superior a 30%. Já um irmão de um indivíduo com DM1 tem um risco de 5%, aumentado para 8% se for gémeo dizigótico e para 50% se for monozigótico.(3) O facto da taxa de concordância em monozigóticos ter este valor, e não superior, demonstra ou que os factores ambientais efetivamente modelam a suscetibilidade genética, ou que a influência é poligénica, como parece ser. (1)

Numerosos estudos têm sido elaborados com o objetivo de descobrir a verdadeira etiologia da doença. Embora o quadro completo ainda não tenha sido absolutamente elucidado, com base no conhecimento atual, a DM1 é hoje considerada uma doença desencadeada por factores imunológicos, genéticos, e ambientais. (4)

Neste artigo de revisão, irei abordar alguns aspetos do que hoje se sabe acerca dessa complexa interação de factores, e do papel que desempenham na etiopatogenia da DM1.

Mecanismos Imunológicos da Diabetes Mellitus tipo 1

O estudo da DM1 em humanos é um desafio, uma vez que os eventos imunológicos mais importantes ocorrem vários anos antes do diagnóstico. Além disso, muitas vezes, os investigadores tendem a utilizar células do sangue periférico, em oposição às células beta pancreáticas propriamente ditas ou aos nódulos linfáticos, pela mais fácil acessibilidade das primeiras. (5) Ultimamente têm sido feitos esforços para identificar e recrutar indivíduos em estados precoces da doença ou com alto risco de desenvolvê-la, e têm sido estudados órgãos *postmortem* de doentes com doença recente. Assim sendo, o nível de conhecimento da doença humana tem vindo a aumentar. (1)

Apesar de tudo, a maioria dos estudos são efectuados em modelos animais, principalmente em ratinhos NOD (*non-obese diabetic*) ou BB (*biobreeding*). Na verdade, estes roedores têm-se manifestado uma ajuda valiosa, pois partilham muitas das características da doença humana, incluindo o aumento da suscetibilidade na presença de determinados haplótipos do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) e de outros genes envolvidos na patologia, como o *cytotoxic T-lymphocyte-associated 4* (CTLA4), e o gene da Insulina. Os ratinhos também desenvolvem imunidade celular e humoral a vários dos antígenos envolvidos na doença humana. (6)

Tanto nos ratinhos como no homem, para a DM1 se desenvolver, tem que surgir inicialmente uma resposta imune contra os antígenos das células beta pancreáticas. Esta resposta desenvolve características fortemente inflamatórias, o que culmina na progressiva destruição dessas células. Além disso, a regulação da resposta autoimune mostra-se inefetiva, levando à perpetuação da destruição e cronicidade da doença. (1)

Mecanismos de destruição das células beta

Início da resposta imunológica contra as células beta

Os eventos/fatores envolvidos no início da resposta imunológica contra as células beta não estão ainda bem esclarecidos. (7)

Foi proposto que alguns vírus, como o Coxsackie B, a Rubéola e a Parotidite infecciosa, possam infectar diretamente as células beta, levando à sua lise. Por outro lado, os vírus podem contribuir indiretamente, através do aumento da expressão do MHC classe I pelas células beta e libertação de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. (1) Foi verificada a ocorrência de uma certa homologia entre o vírus Coxsackie B e um antígeno das células beta, a Descarboxilase do Ácido Glutâmico (GAD), o que, através de um fenómeno de mimetismo molecular, também representa um possível despoletador imunológico. (8)

A morte das células beta, seja induzida por vírus ou fisiológica, leva à liberação de antígenos, e as células dendríticas presentes nos ilhéus englobam esses antígenos para posterior apresentação aos linfócitos T CD4+, através da interação TCR (recetor da célula T) - MHC classe II (células dendríticas). (1) Este momento é de suma importância, na medida em que apenas as células T que escaparam à seleção/deleção no timo são capazes de reconhecer esses antígenos do próprio, e iniciar uma resposta prejudicial às células beta. (9) Esse escape acontece por razões que serão abordadas na continuidade deste trabalho. Assim sendo, os linfócitos T CD4+ autorreativos iniciam a resposta imunitária que engloba também os linfócitos T CD8+, linfócitos B, macrófagos e, possivelmente, células *natural killer* (NK). Foi demonstrado que as células dendríticas são essenciais para o início da autoimunidade - se estas forem eliminadas, a doença não se desenvolve. (1)

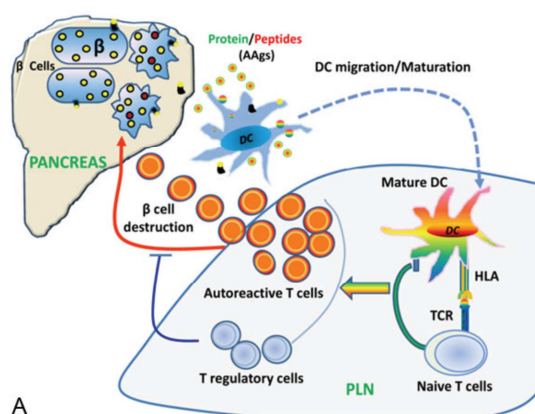


Figura 1: Destruição imunológica das células beta pancreáticas.

Shuhong Han, W.D., Hai Wang, Westley Reeves, *Novel autoantigens in type 1 diabetes*. Am J Transl Res, 2013. 5(4): p. 379-392.

Mecanismos efetores

A presença de linfócitos T CD4+, e correspondente produção de citocinas, é crucial para o início da resposta imune contra as células beta. A depleção deste tipo de células em ratinhos NOD leva a uma menor incidência da doença ou mesmo à sua reversão. (10) Os linfócitos T CD4+ de indivíduos saudáveis, ao reconhecerem um determinado antígeno do ilhéu, libertam a citocina reguladora IL-10. Por outro lado, os linfócitos isolados dum DM1, específicos para o mesmo antígeno, produzem INF-gama, citocina inflamatória. Além disso, os linfócitos T CD4+ ativam os macrófagos, que promovem a morte celular através de mais citocinas e espécies reativas do oxigênio.

A interação entre linfócitos T CD4+ e as células beta, englobada num ambiente altamente proinflamatório, permite que as células dendríticas, através de reações cruzadas, apresentem antígenos também aos linfócitos T CD8+ específicos, suprarregulando as suas propriedades citotóxicas. (1) Estas células atuam através da libertação de granzimas e perforinas dos seus

grânulos citotóxicos, levando à lise celular das células beta, e também através da indução da apoptose. (2) Os linfócitos T CD8⁺ podem ser isolados do pâncreas de ratinhos NOD, e a doença não ocorre na sua ausência ou na ausência de expressão de MHC classe I pelas células beta. (11)

Os linfócitos B específicos para os antígenos dos ilhéus também podem ser ativados pelos linfócitos T CD4⁺ e, assim, se diferenciar em plasmócitos produtores de autoanticorpos. Estas imunoglobulinas podem ligar-se às células beta ou aos receptores Fc dos macrófagos, ativando a cascata do complemento. No entanto, os autoanticorpos em si, embora sejam úteis para identificar pessoas em risco de desenvolver a doença, não parecem ser suficientes para a precipitar. Os linfócitos B ativados funcionam também como células apresentadoras de antígeno, aumentando ainda mais a resposta imune. (1)

O papel das células NK na diabetogênese é incerto. Estudos recentes demonstraram que estas células não são necessárias para o desenvolvimento da doença em ratinhos NOD. (12)

A lesão pancreática descrita, para que a DM1 atinja expressão clínica, tem que ser perpetuada ao longo do tempo. Tal acontece devido à falha dos mecanismos reguladores da resposta imunitária, nomeadamente as células T reguladoras e as citocinas anti-inflamatórias, como o TGF beta e a IL-10.(1)

Suscetibilidade genética

Genes do MHC

Nos mamíferos, todas as células nucleadas expressam, na superfície da sua membrana, moléculas que as identificam como constituintes do próprio organismo. Um grupo de genes conhecido como MHC é responsável pela produção destes marcadores. No ser humano, este sistema é conhecido como *Human Leucocyte Antigen complex* (HLA) e encontra-se no braço curto do cromossoma 6 (locus 6p21.3). Os genes do HLA encontram-se divididos em 3 classes (I, II e III). (4)

As moléculas da Classe I são proteínas diméricas compostas por uma cadeia alfa e uma beta2-microglobulina e encontram-se na superfície de todas as células nucleadas e das plaquetas. A sua função é apresentar antígenos aos linfócitos T CD8. (8) As da classe II, também diméricas - compostas por uma cadeia alfa e uma cadeia beta, surgem nas células que participam ativamente nas defesas do organismo, nomeadamente monócitos/macrófagos, células dendríticas, e linfócitos B. (4) Apresentam antígenos aos linfócitos T CD4. Tanto os linfócitos T CD4 como os T CD8 têm, na sua superfície, recetores, a maioria das vezes constituído por uma cadeia alfa e uma beta, com uma elevada afinidade para complexos antígeno-HLA específicos. (8)

A importância do estudo do MHC advém da constatação de que este contribui em cerca de 40% da agregação familiar da DM1. (13) Nesta doença, os genes da classe II são de importância primordial e dividem-se em 3 subclasses: HLA-DQ, HLA-DP e HLA-DR. (4) Embora alguns estudos tenham associado loci que não o HLA-DR ou o HLA-DQ (como HLA-DPB1, HLA-A e HLA-B) com o risco de doença e com a sua instalação precoce, este risco não é comparável àquele proporcionado pelos primeiros. (13)

O HLA-DR e o HLA-DQ, cujos loci são genericamente chamados de IDDM1, são, portanto, aqueles que mais intensamente influenciam a suscetibilidade à DM1. (14)

Mais de 90% dos doentes com DM1 são portadores do antígeno HLA-DR3 ou do HLA-DR4 (versus 40% dos controlos). (15) Dentro destes, 30% são heterozigotos DR3/DR4 - situação que confere o risco mais elevado de doença (seguida da homozigotia DR4 e DR3, respetivamente).

Também as variações no locus do HLA-DQ influenciam a suscetibilidade/resistência à doença. Este locus codifica várias variantes da molécula HLA-DQ, um heterodímero - cadeia alfa (DQA1) + cadeia beta (DQB1). Na população caucasiana, os alelos do locus DQ mais

fortemente associados à DM1 são o DQ8 (DQA1*0301, DQB1*0302) e o DQ2 (DQA1*0501, DQB1*0201).

A tabela 1 mostra como as várias combinações entre os haplótipos DR e DQ geram diferentes padrões de suscetibilidade.

<i>DQA1</i>	<i>DQB1</i>	<i>DRB1</i>	Effect on T1D susceptibility
0102	0602	1501 (<i>DR2</i>)	Protective
0102	0502 (<i>AZH</i>)	1601 (<i>DR2</i>)	Predisposing
0103	0601	1502 (<i>DR2</i>)	Neutral
0501	0201	0301 (<i>DR3</i>)	Predisposing
0301	0302	0401 (<i>DR4</i>)	Predisposing
0301	0302	0402 (<i>DR4</i>)	Predisposing
0301	0302	0403 (<i>DR4</i>)	Neutral/protective
0301	0302	0404 (<i>DR4</i>)	Neutral
0301	0302	0405 (<i>DR4</i>)	Predisposing
0301	0301	0401 (<i>DR4</i>)	Neutral
0301	0301	0403 (<i>DR4</i>)	Neutral
0201	0303	0701 (<i>DR7</i>)	Protective
0101	0503	1401 (<i>DR1</i>)	Protective

Susceptibility hierarchy: *DRB1**0401 > 0405 > 0402 > 0404 > 0403.

Tabela 1: Padrões de ligação e a sua relação com a suscetibilidade à DM1.

Alberto, P., *Genetics of type 1 diabetes*. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 2004. 33(1): p. 1-16.

Por exemplo, entre os 3 haplótipos DR2 apresentados, apenas o que se associa ao DQB1*0602 é protetor. (14) Este alelo está presente em 20% da população saudável dos EUA, mas apenas em 1% das crianças com DM1. (16)

Dentro dos vários haplótipos DR4 que transportam o DQB1*0302 (DQ8), é o DRB1 especificamente que vai determinar a predisposição à doença, sendo que é possível estabelecer uma ordem de suscetibilidade: DRB1*0401 > 0405 > 0402 > 0404 > 0403. Ao contrário de na molécula DQ, apenas a cadeia beta é polimórfica na molécula DR.

Estes diferentes padrões de suscetibilidade podem ser explicados pela variação da estrutura e das propriedades de ligação das moléculas HLA-DQ e HLA-DR. Por exemplo, o DQA1*0301 (do DQ8) difere do DQA1*0302 na posição 57, onde lhe falta um resíduo de ácido aspártico. O mesmo acontece no DQB1*0201 (do DQ2). Outras posições de aminoácidos críticas são a 70 para o DQB1 e a 52 para o DQA1. Estas diferenças vão resultar numa modificação da conformação da molécula e, conseqüentemente, na alteração da sua capacidade de ligação ao antígeno e correspondente apresentação.

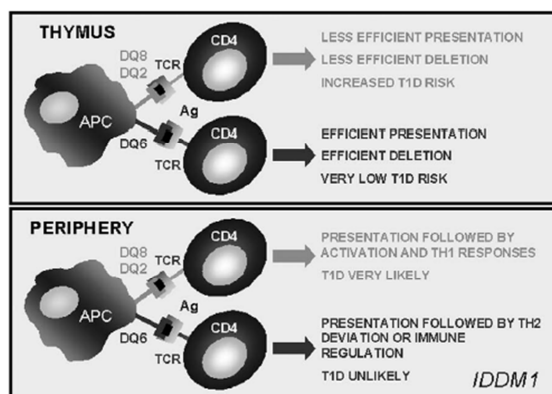


Figura 2: Apresentação de antígenos e HLA.

Alberto, P., *Genetics of type 1 diabetes*. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 2004. **33**(1): p. 1-16.

Existem duas possibilidades para a forma como essas características afetam o risco de DM1. Uma fraca apresentação dos antígenos no timo pode levar a uma desregulação dos mecanismos de seleção negativa, permitindo que células T autoreativas escapem à apoptose. Por outro lado, um HLA-DQ protetor pode promover tolerância aos antígenos das células beta, capacitando uma apresentação no timo das células do próprio e uma seleção negativa mais eficiente. A demonstração de que a insulina e outros antígenos dos ilhéus são expressos no timo suporta a hipótese de que os seus mecanismos de deleção podem ser afetados pela afinidade e propriedades de ligação das moléculas apresentadoras de antígeno HLA-DQ e HLA-DR.

A outra hipótese é de que as moléculas DQ controlem a apresentação de antígenos na periferia, durante a fase ativa da resposta imune, e também que influenciem as respostas reguladoras associadas com a tolerância periférica. Tais respostas referem-se ao balanço entre linfócitos Th1 e Th2. É possível que o risco de DM1 seja controlado a diversos níveis, tanto na apresentação no timo como na periferia. (14)

Embora a situação de maior risco, referente aos genes MHC, esteja praticamente definida – o genótipo DR3,DQB1*0201 (DR3-DQ2)/DR4,DQB1*0302(DR4-DQ8), variados estudos alertam para a existência de outros determinantes importantes, dentro ou próximo à região do MHC. O alelo DRB1*0403, já anteriormente referido, é associado a proteção contra a doença há mais de 20 anos. No entanto, mais recentemente, também o HLA-DPB1 tem sido associado a proteção, visto que alguns estudos descobriram que a frequência do alelo DPB1*0402 é menor em diabéticos do que na população normal. Num estudo em crianças de alto risco (heterozigotia DR3,DQB1*0201/DR4,DQB1*0302) verificou-se que o DPB1*0402 diminuía a taxa de autoimunidade e progressão para DM1.(17)

Embora numa proporção muito menor, também a classe I do HLA pode estar implicada, influenciando a idade de início da doença e a taxa de destruição de células beta. Exemplos em estudo são os genes MIC-A e MIC-B. O gene do TNF alfa, pertencente à classe III, é também candidato, já que polimorfismos podem afetar a produção de TNF alfa e, por sua vez, a magnitude da resposta imune. (14)

Genes não-MHC

Embora importantes, os genes de suscetibilidade do MHC não são suficientes para induzir o aparecimento de DM1, sugerindo uma herança poligénica, na maioria dos casos. Certos genes não-MHC têm sido apontados como possivelmente afetando a suscetibilidade, desde que na presença de alelos MHC adequados. (18)

Região do gene da Insulina

A região do gene da Insulina – IDDM2, localizada no cromossoma 11 (locus 11p15), é o segundo mais importante factor genético de suscetibilidade identificado. A insulina em si é produto da transcrição de um gene – INS, localizado nesta região. (4) 0,5 kilobases antes do INS, encontra-se a região promotora do INS constituída por *Variable number of tandem repeats* (VNTR). Esta pode dividir-se em 3 classes, definidas pelo número de repetições: Classe I (alelos curtos), Classe II (alelos intermédios, rara na população caucasiana) e Classe III (alelos longos). Entre 75% e 85% dos DM1 têm homozigotia para alelos VNTR I. Em comparação, a homozigotia verifica-se em 50% a 60% da população geral. Os alelos VNTR III são raramente encontrados em doentes, e conferem proteção dominante. O risco relativo de DM1 entre o genótipo I/I comparativamente com o genótipo I/III ou III/III é moderado (3 a 5) e conta como cerca de 10% da agregação familiar da doença.

Uma hipótese para explicar os efeitos do IDDM2 adveio da descoberta de que o VNTR medeia um sinal transcricional e de que o INS é transcrito no timo. Esta transcrição tímica foi verificada em humanos durante o desenvolvimento fetal, infância e idade adulta. Como já foi referido anteriormente neste trabalho, a expressão dos antígenos no timo é crítica para a auto-tolerância aos mesmos. Além disso, a seleção negativa dos linfócitos autoreativos é dose dependente, o que sugere que os diferentes alelos VNTR possam modelar a tolerância à insulina afetando as suas taxas de expressão no timo. O facto de que os alelos classe III são transcritos, em média, duas ou três vezes mais do que os da classe I, joga a favor desta hipótese. Assim sendo, níveis elevados de insulina no timo podem promover a eficiência da seleção negativa dos linfócitos T autoreativos ou então uma melhor seleção de linfócitos T reguladores. Por outro lado, a homozigotia I/I tem o efeito oposto e, consequentemente, uma maior associação à DM1. Experiências em ratos NOD corroboram estes achados. (14)

Os genes HLA classe II e a região promotora da insulina representam cerca de 60-70% de todos os casos de agregação familiar de DM1. (19)

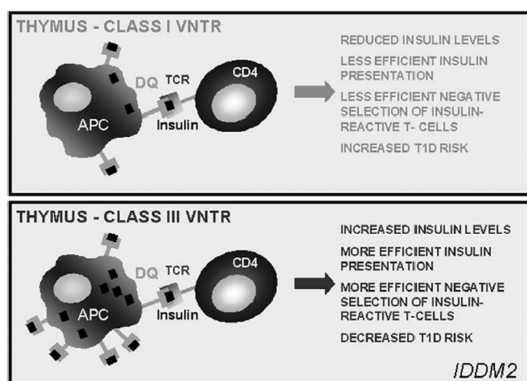


Figura 3: Apresentação de antígenos e IDDM2.

Alberto, P., *Genetics of type 1 diabetes*. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 2004. **33**(1): p. 1-16.

Gene CTLA-4

O cromossoma 2, região 2q33 – IDDM12, contém um conjunto de genes que codificam proteínas envolvidas na co-estimulação das células T: o CTLA-4 (Cytotoxic T-lymphocyte-associated 4), o CD28 e o ICOS.(14)

Tanto o CTLA-4 como o CD28 se ligam à molécula B7 das células apresentadoras de antígenos e completam a ativação iniciada quando o receptor B3 dos linfócitos T se liga ao complexo formado pelo antígeno e a molécula MHC II da célula apresentadora de antígeno.

O gene CTLA-4 é constituído por 4 exões e 3 intrões. Existem, pelo menos, 3 polimorfismos bem estudados: uma substituição C-T na posição 318, uma transição A-G na posição 49 e uma repetição (AT)_n microsatélite no exão 4. Uma meta-análise de 33 estudos relacionando o CTLA-4 com a DM1 concluiu que o polimorfismo A49G está claramente associado à doença, o que não parece acontecer com os outros dois. (20)

Esta transição A-G, codifica uma substituição Thr/Ala no codão 17 do principal peptídeo transcrito. Foram identificados dois haplótipos principais, um protetor - +49A-CT60A e um facilitador - +49G-CT60G. Estes polimorfismos influenciam o splicing do mRNA do CTLA-4 e consequentemente levam à transcrição de uma forma alternativa, o CTLA-4 solúvel (sCTLA-4).

O haplótipo protetor foi associado a níveis elevados de sCTLA-4, enquanto que com o haplótipo facilitador estes níveis estão baixos. O sCTLA-4 compete com o CD28 na ligação às moléculas coestimuladoras B7-1/2, inibindo a resposta imune. Com níveis reduzidos de sCTLA-4, há uma maior ligação do CD28 ao B7-1/2 e, assim, uma menor regulação desta resposta.

Estes achados sugerem que a variação dos níveis de sCTLA-4 influenciam o risco de desenvolver autoimunidade. (14)

Pensa-se que o CTLA-4 possa estar relacionado com um aumento da suscetibilidade geral à auto-imunidade, pois para além da DM1, foi associado a patologia tiroideia autoimune, doença de Graves, esclerose múltipla, artrite reumatóide, doença celíaca e cirrose biliar primária. (20)

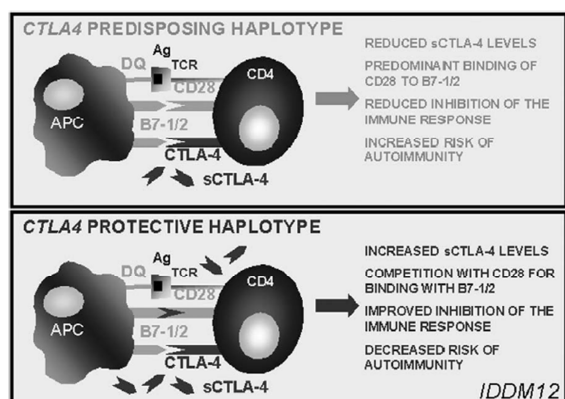


Figura 4: Apresentação de antígenos e IDDM12.

Alberto, P., *Genetics of type 1 diabetes*. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 2004. 33(1): p. 1-16.

Gene PTPN22

Mais recentemente, foi descoberto um quarto locus envolvido na etiopatogenia da DM1. Localizado no cromossoma 1p13, o gene PTPN22 codifica uma proteína tirosina cinase dos linfócitos – LYP. Esta proteína está envolvida numa série de sinais bioquímicos que culminam numa poderosa inibição da ativação dos linfócitos T. (21) O polimorfismo que se descobriu estar associado à DM1 é um SNP (single nucleotide polymorphism) no nucleótido 1858 do codão 620 – Arg620Trp. O alelo 1858T tem maior frequência nos doentes do que na população geral. Esta substituição do resíduo Arginina pelo Triptofano leva a uma alteração das ligações moleculares, resultando em linfócitos T hiperreativos e num aumento da autoimunidade. (18)

É provável que o gene PTPN22 esteja também envolvido noutras doenças, como doença de Graves, hipotireoidismo autoimune e artrite reumatóide. (21)

Outros genes

Outros loci têm sido identificados como tendo relação com a DM1, nomeadamente através da identificação de SNPs, através duma recente técnica de scanning do genoma completo (genome wide association studies). (4) Mais de 50 loci foram identificados, mas a contribuição da maioria é relativamente pequena. Para provar a sua importância, é necessária a confirmação da sua influência em várias populações, a correlação com fenótipos da doença e

associação com marcadores imunes. A interação entre os vários loci deve também ser estudada para confirmar a sua influência.

Actualmente, existem 10 regiões associadas à DM1 confirmadas. (22) Para além das 4 mencionadas anteriormente, a região do gene do receptor alfa da interleucina 2 – IL-2RA, também conhecido por CD25, localizada no cromossoma 10 (locus 10p15.1), foi recentemente proposta como mais um gene de susceptibilidade. A proteína IL-2RA é largamente expressa nos linfócitos T reguladores CD4+ CD25+ e é importante para a sua sobrevivência, proliferação e função. Estudos em algumas populações têm confirmado esta hipótese. (23)

As outras 5 regiões são: 12q13/ERRB3, 12q24/C12orf30, 16p13/CLEC16A, 18p11/PTPN2 e 2q24/IFIH1. (22)

Autoantígenos e autoanticorpos

Autoanticorpos para células dos ilhéus (ICAs) não específicos foram inicialmente detetados no soro de doentes com deficiência poliendócrina autoimune. Posteriormente, os ICAs foram identificados em 85% dos DM1 recentemente diagnosticados e em indivíduos prediabéticos. (8)

Como para haver anticorpos tem que haver antígenos, têm sido exaustivamente estudados os vários autoantígenos das células beta, que são o alvo da resposta imune característica da DM1. (2)

Os autoanticorpos correspondentes não têm ainda um papel definido na patogenia da doença, mas a sua deteção no soro tem sido utilizada com vários propósitos: diferenciar entre DM1 e DM2; diagnosticar cetoacidose diabética de instalação aguda em indivíduos obesos; diagnosticar diabetes não cetótica em indivíduos com peso normal; prever e tentar prevenir o desenvolvimento de DM1. (7)

Depois dos primeiros ICAs, mais recentemente, foram descritos anticorpos contra a insulina (IAA), a descarboxilase do ácido glutâmico (GAD) e a proteína tirosina-fosfatase IA2 (IA-2A). Para a sua deteção, são utilizados radioimunoensaios altamente sensíveis.

Os autoanticorpos podem estar presentes anos antes do estabelecimento da diabetes, e a progressão da doença está associada à presença de múltiplos autoanticorpos que persistem ao longo do tempo. Estes autoanticorpos também podem ser expressos transitoriamente, o que acontece com maior frequência em indivíduos com baixo risco genético de DM1. Não se conhece o papel destas elevações transitórias no risco de desenvolver a doença.

Estas constatações foram apoiadas por um estudo prospectivo publicado em 2004 – DAISY (*Diabetes Autoimmunity Study in the Young*), em que foram seguidas e analisadas, durante 20 anos, 1972 crianças quanto ao desenvolvimento de autoanticorpos. No grupo que desenvolveu diabetes, todas as crianças se mantiveram persistentemente positivas para pelo menos um autoanticorpo e, no momento do diagnóstico, a maioria era positiva para mais que um autoanticorpo, sendo que o IAA era o mais prevalente. Os níveis de ICAs foram associados com a progressão para diabetes – níveis superiores a 20 unidades JDF (*Juvenile Diabetes Foundation*) foram associados a um risco de progressão para DM1 em 10 anos de 53%, assim como um risco de 43% para níveis superiores a 10 unidades. Quarenta e cinco por cento das crianças com autoanticorpos tiveram elevações transitórias – este grupo permanece uma incógnita. Esta expressão pode ser devida à variabilidade dos ensaios ou, mais provavelmente, à reversão da autoimunidade por alguma razão. Estas elevações transitórias podem estar associadas a positividade numa infância tardia ou mesmo na idade adulta. (24)

Por outro lado, certas crianças com DM1 e total ausência de autoanticorpos ao diagnóstico revelam um nível de descompensação metabólica semelhante ao das crianças que os apresentam, enquanto que aqueles com maior variedade de autoanticorpos parecem ter o padrão de destruição mais acelerado. Isto leva a pensar que a resposta imune humoral tem pouca influência nas características clínicas da DM1, influenciando sim a velocidade de progressão da doença. (25)

Ainda mais recentemente, outro autoanticorpo foi definido – o transportador do zinco ZnT8. Posto isto, consideram-se, actualmente, cinco os autoanticorpos major para a DM1 (ICA, IAA, GAD, IA-2A e ZnT8), descritos em seguida.

Compreender a natureza e a utilidade clínica dos autoantígenos e correspondentes autoanticorpos é um dos focos principais da investigação na DM1, e tem importantes implicações na predição, diagnóstico e intervenção na restauração da tolerância imunológica. (7)

Insulina

A Insulina é um autoantígeno das células beta que parece ter um papel primário no desenvolvimento da doença. (15) Investigação em ratinhos NOD demonstrou que o epítipo reconhecido pelas células T CD4 específicas corresponde à região composta pelos aminoácidos 9 a 23 da cadeia beta da insulina (B9-23). Também as células T CD8 infiltradas nos ilhéus reagiram a este epítipo, numa proporção superior a 80%, mesmo antes da manifestação clínica da doença. (26)

A eliminação da Insulina e das células T insulino-reativas previne a DM1 em ratinhos, (7) tal como a injeção de insulina ou da sua cadeia beta durante a fase prediabetes conseguiu prevenir ou atrasar a progressão da doença. (26) Embora no homem não seja possível realizar o mesmo tipo de experiências, algumas evidências indiretamente indicam que a insulina está envolvida na progressão da doença humana. Por exemplo, células T CD4 específicas para a insulina são encontradas no sangue periférico de doentes recentemente diagnosticados, mas não no dos controlos. (7) Acredita-se que, no homem, o epítipo imunogénico seja também o B9-23. (26) Ao contrário dos outros antígenos, a insulina é expressa exclusivamente nas células beta. (7)

Geralmente, os autoanticorpos para a insulina (IAA) são os primeiros a surgir, (27) e são detetados em cerca de 50% dos indivíduos recém-diagnosticados. (15) A importância da deteção dos IAA relaciona-se com a predição da doença, cujo risco se torna mais forte na presença de outros autoanticorpos, como os ICA, GAD e IA-2A. No entanto, mesmo considerando apenas os IAA, é possível estratificar o risco de progressão para DM1 através da

sua afinidade. (7) Tipicamente, a exposição a um antígeno na presença de fatores de crescimento específicos, resulta na proliferação dos linfócitos B e produção de IgM. O prolongamento ou a repetição desta exposição converte a produção de IgM em IgG, e a subsequente exaustão do antígeno leva à seleção de clones que produzem IgG com elevada afinidade para o antígeno. As IgGs com alta afinidade são mais comuns em indivíduos cujos IAAs se desenvolvem muito precocemente e nos que transportam o alelo HLA-DR4. A sua ligação à insulina é extremamente forte, contrariamente ao que acontece com os IAAs de baixa afinidade; os epítomos a que cada um se ligam são também diferentes. Assim sendo, admite-se que uma exposição precoce à insulina, sendo esta reconhecida como um antígeno, é relevante para a patogénese da doença.

Não esquecer que, a partir do momento em que é administrada insulina subcutânea, praticamente todos os doentes desenvolvem anticorpos contra a insulina. Assim, deixa de ser possível usar os IAAs como marcador da diabetes imunomediada. (27)

Descarboxilase do Ácido Glutâmico (GAD)

O GAD é considerado um dos autoantígenos mais notáveis envolvidos na autoimunidade contra as células beta, em indivíduos geneticamente suscetíveis. (28) Este antígeno corresponde a uma proteína periférica da membrana celular associada a microvesículas sinápticas-like e é a enzima responsável pela síntese do ácido gamaaminobutírico. É expressa amplamente no sistema nervoso, em todas as células dos ilhéus (alfa, beta e delta) e, em baixos níveis, no pulmão. (29)

A maioria dos DM1 exibem autoanticorpos contra a isoforma de 65 kDa do GAD (anti-GAD) vários anos antes do diagnóstico. Os anti-GAD também ocorrem frequentemente na “síndrome de stiff-person” e na diabetes autoimune latente do adulto (LADA - muitas vezes erradamente diagnosticados com DM tipo 2), apesar de que, nestas doenças, a especificidade do epítipo e a concentração do GABA têm diferentes valores.

Não tem sido fácil estabelecer a verdadeira importância dos anti-GAD. Depois de investigação intensiva atingiu-se algum consenso – estudos em familiares de 1º grau de doentes DM1 e na população geral demonstraram que a ocorrência de anti-GAD, acompanhado de outros autoanticorpos dos ilhéus ou isoladamente em concentrações elevadas, está significativamente associada aos alelos HLA de suscetibilidade e a um risco acrescido de desenvolver a doença. (28) As próprias células T CD4 GAD65 específicas foram detetadas no sangue periférico de doentes recentemente diagnosticados e nos indivíduos de alto risco, mas não em controlos saudáveis. As experiências em ratinhos NOD são concordantes com essa observação - a supressão da expressão do GAD65 nas células beta previne a autoimunidade e as células T GAD65 reativas transferidas adotivamente têm efeito diabetogénico. (7)

Proteína associada ao insulinoma 2 (IA-2)

Outro antígeno confirmado é a IA-2, da família das proteínas tirosina fosfatase, expressa na membrana dos grânulos de secreção das células neuroendócrinas (incluindo células beta), no cérebro, no timo e no baço. (30)

Foi constatado que, no timo e no baço, a proteína sofre um splicing alternativo durante a transcrição, o que resulta numa deleção do exão 13. Já no pâncreas, é expressa principalmente a sua forma completa, embora também seja transcrita a forma alternativa com deleção do exão 13 e ainda uma outra com deleção de parte do exão 14. Esta diferença de expressão do IA-2 entre os ilhéus e os órgãos linfóides pode ser a explicação para a resposta autoimune contra o antígeno, visto que não é adquirida tolerância para os epítomos que são expressos nos ilhéus, ao contrário do timo. (14)

Autoanticorpos para o IA-2 podem ser detetados no soro de 60% a 80% dos doentes com doença recém estabelecida. Estes autoanticorpos geralmente surgem mais tarde do que os dirigidos à insulina e ao GAD, e estão fortemente associados à expressão de múltiplos anticorpos anti-ilhéus e progressão para DM1. (30)

Transportador do zinco ZnT8

O Znt8 está localizado na membrana dos grânulos secretores de insulina das células beta. A sua função é transportar iões zinco do citoplasma para o interior das vesículas; o zinco é essencial à apropriada maturação e armazenamento da insulina.

Os autoanticorpos para o ZnT8 (ZnT8A) estão associados com a DM1 e mostraram ser úteis na predição e diagnóstico da doença. Sessenta a 80% dos recém diagnosticados são positivos para ZnT8A, dos quais 4% não expressam nenhum outro autoanticorpo. Indivíduos seguidos desde o nascimento desenvolveram ZnT8A aos 2 anos de idade, com níveis crescentes até ao estabelecimento da doença. Após o diagnóstico, os níveis começam a descer. A prevalência dos autoanticorpos está inversamente relacionada com a idade de diagnóstico, sendo máxima – 70%, em doentes com menos de 10 anos.

Para além de ser alvo de autoanticorpos, o ZnT8 é também considerado um antígeno major das células T CD4 autoreativas. Foi constatado que os portadores de pelo menos uma cópia dum haplótipo HLA de risco (DR4/DQ8 e/ou DR3/DQ2) exibem uma quantidade significativamente mais elevada de células T ZnT8 específicas proinflamatórias no sangue periférico. Além disso, outros estudos indicam que o ZnT8 é também um antígeno major das células T CD8. Actualmente não existe informação acerca do seu papel na autoimunidade em ratinhos. (7)

Fatores ambientais

O papel dos vírus

Já há mais de um século que os vírus são considerados um provável factor ambiental major no despoletar da DM1. Mesmo antes da parotidite infecciosa ser reconhecida como uma doença vírica, foi sugerida a sua associação com o desenvolvimento de DM1. (31) Embora atualmente seja improvável a sua associação à doença, no passado pode ter contribuído ocasionalmente para o seu desenvolvimento, nomeadamente antes da era da vacinação. (32)

Outros vírus estão hipoteticamente envolvidos no aparecimento da DM1. Muitos deles têm um papel duvidoso, podendo ter sido mero acaso que a infeção tenha coincidido com o início da doença. (33)

Dentro dos vírus menos provavelmente ligados à DM1 encontram-se os seguintes:

- Rotavírus: Casos de aparecimento da doença em crianças depois de infeção por este vírus. Num estudo mais recente não foi encontrada associação;
- Citomegalovírus: Controvérsia – estudos serológicos com resultados discrepantes. Foi descoberto um epítipo partilhado entre o CMV e o GAD65 que pode levar a reatividade cruzada (sem significado clínico comprovado);
- Retrovírus: Estudos em ratinhos NOD sugeriram associação; controvérsia no homem;
- Vírus Epstein-Barr: Associado com outras doenças autoimunes, raramente associado a DM1 através de um epítipo análogo à cadeia HLA-DQ8b;
- Parotidite infecciosa. (32, 33)

Por outro lado, há evidência substancial do envolvimento do vírus da Rubéola no aparecimento da doença. Associação entre DM1 e rubéola congénita foi encontrada em estudos de follow-up na Austrália e nos EUA. Tal como na parotidite, o uso de vacinas veio a diminuir a incidência desta doença.

Mais recentemente, tem-se tentado clarificar o papel dos enterovírus, os vírus historicamente mais ligados à doença.

Os enterovírus são membros da família Picornavírus e incluem os Poliovírus, os vírus Coxsackie A e B e o Echovírus. A infeção por diferentes serótipos é comum, começando nos primeiros meses de vida. Frequentemente causam virémia e podem disseminar-se para vários órgãos, incluindo o pâncreas. A maioria das infeções são leves e subclínicas.

A detecção de anticorpos no soro de 123 indivíduos recentemente diagnosticados verificou que a maioria deles era positivo para o Coxsackie, mais precisamente o Coxsackie B4, ao contrário dos controlos saudáveis. (34) Outros estudos foram feitos em populações de diversas áreas geográficas, e concluiu-se que 16 em 23 desses estudos obtiveram resultados similares. No entanto, as amostras e as metodologias utilizadas foram diferentes, causando discrepância de resultados, e dificultando assim que se chegasse a uma conclusão sobre o envolvimento deste vírus. Ainda assim, a epidemiologia assim o indica, sugerindo uma forte associação causal. (32)

A análise do sangue por PCR veio a encontrar resultados semelhantes – num estudo com 110 crianças com menos de 15 anos e DM1 e 180 controlos mostrou 27% de positividade nas primeiras e 4,9% nos segundos. (35)

O interferão alfa, uma das citocinas anti-virais mais potentes, está aumentada no soro de doentes com DM1. O Coxsackie B4 parece induzir a síntese deste interferão em células beta humanas in vitro. A proliferação de células T específicas para antígenos do enterovírus está também aumentada nestes doentes.(32) Foi encontrada homologia significativa entre o GAD e a proteína F2C do Coxsackie B4, sugerindo mimetismo molecular. (36)

A sazonalidade do diagnóstico da DM1 foi há muitos anos descrita como tendo uma maior incidência no outono e no inverno, coincidindo com altura de maior frequência de infeções por enterovírus. O aparecimento inaugural dos autoanticorpos da doença também apresenta uma sazonalidade semelhante.

Sugere-se que a infeção por enterovírus durante a gravidez pode levar à sucessão de eventos que leva à DM1 infantil, contudo essas afirmações não estão confirmadas.

Apesar das constatações referidas, várias outras investigações vão contra a importância destes vírus na patogenia da doença.(32) Por exemplo, um estudo prospectivo seguiu 18 indivíduos com infeção aguda por Coxsackie B e constatou que, embora a infeção esteja associada com reações imunes ao GAD, estas reações são transitórias e nenhum dos elementos desenvolveu DM1. (36) Pode ser que seja apenas a imunossupressão e consequente maior suscetibilidade a infeções característica dos doentes com DM, que faça com que estes tenham uma maior taxa de infeção por vírus. (32)

Fatores perinatais

A influência das infeções congénitas por rubéola e enterovírus já mencionadas anteriormente, juntamente com o facto de que a incidência da DM1 tem vindo a crescer ao longo dos anos, levou à suspeita de que outros eventos perinatais poderiam aumentar o risco de desenvolver a

doença. Nesse sentido, foi feito um estudo na população europeia que analisou 892 crianças com DM1 e 2291 controlos. Vários factores foram associados com um pequeno aumento no risco, nomeadamente idade materna maior que 25 anos, preeclâmpsia, hipóxia neonatal e icterícia, principalmente aquela devida a incompatibilidade ABO. O baixo peso e a pequena estatura ao nascer revelaram-se factores protetores. (37)

Fatores da infância

Sendo uma das mais precoces exposições ao ambiente, a vacinação das crianças tem sido associada ao desenvolvimento de doenças crónicas, como o autismo ou a DM1. Nesse sentido, foi feito um estudo em filhos de indivíduos com DM1 (geneticamente susceptíveis) – não foi encontrada associação significativa entre vacinação e autoimunidade nos ilhéus. Também nesse estudo foi testada a influência do aleitamento materno, que se mostrou igualmente negativa, (38) embora outros estudos tenham feito essa relação. (39)

Para além do leite materno, também a exposição precoce ao leite da vaca foi associada a autoimunidade, uma vez que a grande diferença de incidência da DM1 de país para país por vezes se correlaciona com diferentes níveis de consumo deste produto. Pode-se até dizer que, no que toca ao papel da dieta no desenvolvimento da doença, o leite da vaca tem sido aquele a que mais importância se tem dado. (38)

Esta constatação foi primeiramente encontrada num estudo na população finlandesa, e já tinha sido testada com sucesso em alguns modelos animais. Duas meta-análises dos estudos de caso-controlo já efectuados indicaram um efeito moderado da exposição a fórmulas contendo leite de vaca. Foram observados níveis elevados de anticorpos contra o leite de vaca em crianças recentemente diagnosticadas com DM1, no entanto estes foram também encontrados em parentes de crianças com a doença e em indivíduos com outras patologias autoimunes. Outro estudo revelou uma associação significativa entre a introdução precoce do leite da vaca e a DM1 apenas em indivíduos com alelos HLA-DQB1 de risco. (39)

Na tentativa de especificar o componente do leite que poderia levar a esta autoimunidade, sugeriu-se que a beta-caseína, uma proteína, tenha efeitos imunossupressores que afectam o desenvolvimento da tolerância imune ao nível do intestino, ou então, que suprimam os mecanismos de defesa contra enterovírus, e assim aumentem o risco de doença. (40) No entanto, por enquanto essa hipótese continua por confirmar.

Um estudo mais recente, na população de Belgrado, não encontrou associação entre o consumo e a doença – a variabilidade de resultados entre estudos continua a ser uma constante. (39) É necessária uma compreensão mais detalhada da complexa composição proteica do leite de vaca para clarificar o seu efeito no desenvolvimento de DM1. (40)

Também os alimentos sólidos e o momento da sua introdução têm sido propostos como factores de risco para a DM1.

O glúten, componente de alguns cereais, é comprovadamente o antigénio desencadeante da resposta autoimune da doença celíaca. A sua introdução na dieta demasiado precocemente, ou a dose da exposição, são factores suspeitos de aumentar o risco desta doença. A DM1 foi também ligada ao glúten – a associação entre DM1 e doença celíaca, a reduzida prevalência de DM1 em doentes celíacos com privação de glúten e a baixa incidência de DM1 em ratinhos com dieta livre de glúten levantaram esta suspeita. Posto isto, um estudo provou que a introdução do glúten antes dos 3 meses de idade leva ao desenvolvimento de uma taxa de autoanticorpos dos ilhéus 5 vezes superior do que se o antigénio for introduzido depois dessa idade. Além disso, todas as crianças com o genótipo HLA-DR3/DR4-DQ8 desenvolveram múltiplos autoanticorpos dos ilhéus. O mecanismo pelo qual o glúten ou outros alimentos sólidos poderiam aumentar a suscetibilidade à doença permanece incerto. Embora os achados mencionados sejam altamente sugestivos do envolvimento do glúten na resposta imune, não se pode ainda afirmar com certeza que isso acontece. Ainda assim, recomenda-se o seguimento das guidelines de alimentação infantil, que apontam para a introdução do glúten após os 3 meses de idade. (41)

Um estudo de caso-controlo feito na Noruega reportou que as crianças com DM1 tinham, em média, recebido menos suplementos de óleo de fígado de bacalhau durante a infância, comparando com as crianças saudáveis. O óleo em questão contém tanto vitamina D como o ácido gordo ómega-3, por isso não ficou claro qual deles, ou ambos, poderia ser um factor protetor. Outros dois estudos do mesmo género, demonstraram que as crianças com DM2 tinham consumido menos suplementos de vitamina D do que as sem a doença, mas o efeito do ómega 3 ficou por esclarecer.

Este ácido gordo já tinha demonstrado ter um potente efeito na resposta inflamatória em animais e no homem e a sua deficiência, muito comum nas dietas do mundo ocidental, pode estar envolvida no risco de doenças autoimunes, como a DM1. Para testar esta hipótese foi feito um estudo observacional na população DAISY, entre 1994 e 2006 – concluiu-se que um consumo elevado de ómega-3 está associado a menor risco de autoimunidade dos ilhéus, em crianças com risco genético aumentado. Este facto é ainda fortalecido pela observação de que os indivíduos com uma maior proporção de ómega 3 na membrana dos eritrócitos têm, igualmente, um risco diminuído de doença. (42)

Conclusão

No final deste trabalho, podemos concluir que a Diabetes Mellitus tipo I é uma doença multifatorial, de extrema complexidade, cuja compreensão está ainda longe de ser completa.

Começando pelo mecanismo imunológico propriamente dito, embora já tenham sido identificadas várias das células e citocinas envolvidas e algumas das suas interações, fica por perceber exatamente o que despoleta a resposta imunogénica, o que realmente dá início à doença.

Para além da imunidade celular, também a imunidade humoral está envolvida na DMI, e têm sido estudados vários autoanticorpos contra antígenos das células beta. Alguns, mais comprovadamente ligados à doença, como a Insulina, o GAD e o IA-2, têm sido utilizados como preditores desta, pois a sua deteção no soro precede a fase clínica.

Estudos familiares demonstraram que a incidência da DMI em gêmeos monozigóticos de doentes era de cerca de 50%, o que prova que a genética está também envolvida na sua etiopatogenia. Esta componente é principalmente suportada pelos genes do MHC, nomeadamente os da classe II, existindo certos haplótipos manifestamente associados a uma maior suscetibilidade. Também outros genes, não-MHC, têm sido envolvidos, embora numa dimensão muito menor. Alguns exemplos são a região do gene da Insulina, o CTLA-4 e o PTPN22.

No entanto, os genes isoladamente não explicam toda a origem da doença, e a influência do ambiente é algo a considerar. As infeções por vírus têm merecido algum destaque, sendo os Enterovírus, nomeadamente o Coxsackie B, os que mostram associações mais consistentes. Alguns acontecimentos perinatais e na infância, nomeadamente as exposições ao leite da vaca, glúten ou ómega-3, podem também estar envolvidos na suscetibilidade à doença.

Há, portanto, ainda muito por descobrir. Sendo a DM1 uma doença tão comum – mais de 300 casos/ano em Portugal, com aumento anual gradual (segundo o relatório anual do Observatório da Diabetes) e com tantas comorbilidades, destaca-se a importância da continuidade da investigação, para que cada vez se encontrem mais e melhores formas de a prevenir ou controlar, aumentando assim a sobrevida e a qualidade de vida dos doentes.

Referências Bibliográficas

1. Wallberg M, Cooke A. Immune mechanisms in type 1 diabetes. *Trends in immunology*. 2013;34(12):583-91.
2. Sesterheim P, Saitovitch D, Staub HL. Diabetes mellitus tipo 1: multifatores que conferem suscetibilidade à patogénia auto-imune. *Scientia Medica*. 2007;17(4):212-7.
3. Groop L, Pociot F. Genetics of diabetes--are we missing the genes or the disease? *Molecular and cellular endocrinology*. 2014;382(1):726-39.
4. Acharjee S, Ghosh B, Al-Dhubiab BE, Nair AB. Understanding type 1 diabetes: etiology and models. *Canadian journal of diabetes*. 2013;37(4):269-76.
5. Vehik K, Fiske S, Logan CA, Agardh D, Cilio C, Hagopian W, et al. Methods, quality control and specimen management in an international multicentre investigation of type 1 diabetes: TEDDY. *Diabetes Metab Res Rev*. 2013(29):557–67.
6. William M. Ridgway*, Laurence B. Peterson†, John A. Todd‡, Dan B. Rainbow‡, Barry Healy‡, Oliver S. Burren‡, et al. Gene–Gene Interactions in the NOD Mouse Model of Type 1 Diabetes. *Advances in Immunology*. 2008;100:151–75.
7. Shuhong Han WD, Hai Wang, Westley Reeves. Novel autoantigens in type 1 diabetes. *Am J Transl Res*. 2013;5(4):379-92.
8. Mark A. Atkinson NKM. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus *The New England Journal of Medicine*. 1994;331(21):1428 - 36.
9. Marrack P, Kappler JW. Do MHCII-Presented Neoantigens Drive Type 1 Diabetes and Other Autoimmune Diseases? *Advances in Immunology*. 2008(100):151-75.
10. Makhoul L, Grey ST, Dong V, Csizmadia E, Arvelo MB, Auchincloss HJ, et al. Depleting Anti-Cd4 Monoclonal Antibody Cures New-Onset Diabetes, Prevents Recurrent Autoimmune Diabetes, and Delays Allograft Rejection in Nonobese Diabetic Mice. *Transplantation*. 2004(77):990-7.
11. Jonathan Katz†, and CB, Mathis D. Major histocompatibility complex class I molecules are required for the development of insulitis in non-obese diabetic mice. *European Journal of Immunology*. 1993;23(12):3358–60.
12. Joshua N. Beilke¹, Craig T. Meagher³, Karoline Hosiawa⁴, Marine Champsaur^{1,2}, Jeffrey A. Bluestone⁵, Lewis L. Lanier¹. NK Cells Are Not Required for Spontaneous Autoimmune Diabetes in NOD Mice. *PLoS ONE* 7. 2012;7(4):e36011.
13. Aly TA, Ide A, Jahromi MM, Barker JM, Fernando MS, Babu SR, et al. Extreme genetic risk for type 1A diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006;103(38):14074-9.
14. Alberto P. Genetics of type 1 diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 2004;33(1):1-16.
15. McDevitt RTaH. Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Cell Press*. 1996;85:291-7.
16. Pugliese A GR, Moromisato R, Awdeh ZL, Alper CA, Erlich HA, Jackson RA, Eisenbarth GS. HLA-DQB1*0602 is associated with dominant protection from diabetes even among islet cell antibody-positive first-degree relatives of patients with IDDM. *Diabetes*. 1995;44(6):608.

17. Baschal EE, Aly TA, Babu SR, Fernando MS, Yu L, Miao D, et al. HLA-DPB1*0402 protects against type 1A diabetes autoimmunity in the highest risk DR3-DQB1*0201/DR4-DQB1*0302 DAISY population. *Diabetes*. 2007;56(9):2405-9.
18. Bottini N, Musumeci L, Alonso A, Rahmouni S, Nika K, Rostamkhani M, et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. *Nature genetics*. 2004;36(4):337-8.
19. D Kantarová MB. Genetic Susceptibility to Type 1 Diabetes Mellitus in Humans. *Physiol Res*. 2007;56:255.
20. Kavvoura FK, Ioannidis JP. CTLA-4 gene polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes mellitus: a HuGE Review and meta-analysis. *American journal of epidemiology*. 2005;162(1):3-16.
21. Deborah Smyth, Joanna M.M. Howson, Bryan J. Barratt, David B. Dunger, David G. Clayton, Jason D. Cooper, et al. Replication of an Association Between the Lymphoid Tyrosine Phosphatase Locus (LYP/PTPN22) With Type 1 Diabetes, and Evidence for Its Role as a General Autoimmunity Locus. *Diabetes*. 2004;53:3020-3.
22. Cooper JD, Smyth DJ, Smiles AM, Plagnol V, Walker NM, Allen JE, et al. Meta-analysis of genome-wide association study data identifies additional type 1 diabetes risk loci. *Nature genetics*. 2008;40(12):1399-401.
23. Aminkeng F, Weets I, Van Autreve JE, Koeleman BP, Quartier E, Van Schravendijk C, et al. Association of IL-2RA/CD25 with type 1 diabetes in the Belgian population. *Human immunology*. 2010;71(12):1233-7.
24. Barker JM, Barriga KJ, Yu L, Miao D, Erlich HA, Norris JM, et al. Prediction of autoantibody positivity and progression to type 1 diabetes: Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(8):3896-902.
25. Emad Sabbah KS, Petri Kulmala, Riitta Veijola, Paula Va"Ha" Salo, Jukka Karjalainen, Hans K. Åkerblom, Mikael Knip, And The Childhood Diabetes In Finland Study Group. Diabetes-Associated Autoantibodies in Relation to Clinical Characteristics and Natural Course in Children with Newly Diagnosed Type 1 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999;84(5):1534-9.
26. David G. Alleva PDC, 1 Liping Jin,1 William W. Kwok,2Nicholas Ling,1 Michael Gottschalk,3 Paul J. Conlon,1Peter A. Gottlieb,4Amy L. Putnam,4 and Amitabh Gaur. A disease-associated cellular immune response in type 1 diabetics to an immunodominant epitope of insulin. *The Journal of Clinical Investigation*. 2001;107(2):173-80.
27. Achenbach P, Koczwara K, Knopff A, Naserke H, Ziegler A-G, Bonifacio E. Mature high-affinity immune responses to (pro)insulin anticipate the autoimmune cascade that leads to type 1 diabetes. *Journal of Clinical Investigation*. 2004;114(4):589-97.
28. Christian Krueger P, Winfried St öcker M, Michael Schlosser P. Glutamic acid decarboxylase autoantibodies. *Autoantibodies*. 2007(48):369-78.
29. Wenzlau JM, Hutton JC. Novel diabetes autoantibodies and prediction of type 1 diabetes. *Current diabetes reports*. 2013;13(5):608-15.
30. Bearzatto M. Fine mapping of diabetes-associated IA-2 specific autoantibodies. *Journal of Autoimmunity*. 2003.

31. H. F. Harris mD. A Case of Diabetes Mellitus Quickly Following Mumps — On the Pathological Alterations of the Salivary Glands, Closely Resembling Those Found in the Pancreas, in a Case of Diabetes Mellitus. *Boston Med Surg J* 1899(140):465-9.
32. Hyoty H, Taylor KW. The role of viruses in human diabetes. *Diabetologia*. 2002;45(10):1353-61.
33. Jun† H-S, Ji-Won Yoon*. A new look at viruses in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2003(19):8-31.
34. D. R. Gamble mB, m.C.Path., dip.Bact.; m. L. Kinsley,t f.I.M.L.T.; m. G. Fitzgerald,t m.D., f.R.C.P., R. Bolton mB, f.R.C.P.; k. W. Taylorjj m.D., ph.D. Viral Antibodies in Diabetes Mellitus. *British Medical Journal*. 1969(3): 627-30.
35. C. Nairn* DNG, * K. W. Taylor² and G. B. Clements*. Enterovirus variants in the serum of children at the onset of Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1999(16):509-13.
36. Francesca Cainelli M, Dario Manzaroli M, Carlo Renzini M, Ferruccio Casali M, Ercole Concia M, Sandro Vento M. Coxsackie B Virus–Induced Autoimmunity to GAD Does Not Lead to Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(7):1021.
37. Gisela G. Dahlquist M, Phd, Chris Patterson P, Gyula Soltesz M, Phd. Perinatal Risk Factors for Childhood Type 1 Diabetes in Europe. *Diabetes Care*. 1999;22(10):1698-702.
38. Michael Hummel M, Martin Fuchtenbusch M, Mike Schenker M, Anette-G. Ziegler M. No Major Association of Breast-Feeding, Vaccinations, and Childhood Viral Diseases With Early Islet Autoimmunity in the German BABYDIAB Study. *Diabetes Care*. 2000;23(7):969-74.
39. Sipetic S, Vlajinac H, Kocev N, Bjekic M, Sajic S. Early infant diet and risk of type 1 diabetes mellitus in Belgrade children. *Nutrition*. 2005;21(4):474-9.
40. R B Elliot DPH. Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. *Diabetologia*. 1999;42:292-6.
41. Anette-G. Ziegler M, Sandra Schmid P, Huber D, Michael Hummel M, Ezio Bonifacio P. Early Infant Feeding and Risk of Developing Type 1 Diabetes–Associated Autoantibodies. *JAMA*. 2003;290(13):1721-8.
42. Jill M. Norris M, PhD, Xiang Yin M, MS, Molly M. Lamb B, Katherine Barriga M, Jennifer Seifert B, Michelle Hoffman R, et al. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Intake and Islet Autoimmunity in Children at Increased Risk for Type 1 Diabetes. *JAMA*. 2007;298(12):1420-8.